第4卷第4期 动物学研究 Vol. 4, No. 4
1983年11月 ZOOLOGICAL RESEARCH Nov., 1983

东北梅花鹿的染色体组型 C分带和G分带

俞秀璋　胡振东

（中国农业科学院特产研究所）

东北梅花鹿（*Cervus nippon hortulorum*）是一种药用和观赏动物。其鹿茸是名贵的药材，长期以来被列为"东北三宝"（人参、貂皮、鹿茸）之一，并在国际市场上享有盛名。

为了提高鹿茸产量，人们除在现有的种群内进行选育提高外，还利用东北梅花鹿和东北马鹿（*Cervusc canadensis xanthopygus*）进行种间杂交，力求从根本上改良现有的种群。

一般认为哺乳动物种间杂交的F_1不育或异型配子不育（吴常信1975）。但目前已知东北梅花鹿与东北马鹿杂交，包括正反交的F_1两性都能育。为弄清其遗传实质，我们开展了对东北梅花鹿、东北马鹿及其F_1的染色体组型、C分带和G分带的分析。现将已完成的东北梅花鹿的分析结果报告如下：

材 料 和 方 法

一　材料来源：供试鹿来自本所鹿场，共九只，其中：公鹿五只（成年公鹿一只、育成公鹿四只），母鹿四只（成年母鹿二只、育成母鹿二只）。从试验鹿的颈静脉采血。

二　细胞培养及染色体制备：外周血淋巴细胞培养及染色体制备是参照Hungerford法(1965)略有修改。培养基采用RPMI 1640，加20％小牛血清。培养温度为39°C。细胞培养终止前2—4小时加入秋水仙素，使最终浓度为0.08微克/毫升。常规方法制片。

三　染色体的常规分析：标本片以Giemsa染色后，观察染色体的数目及形态。参照人类染色体测量和计算的三个参数，测量了15个细胞的染色体，分别算出其相对长度、臂比和着丝点指数。据此对染色体进行分组和编号。

四　C分带显色法：将标本片置于5％氢氧化钡溶液中（52—65°C）处理5—15分

本文1982年10月28日收到。
本文承复旦大学刘祖洞，黄文儿教授，薛京伦、马正蓉老师指正，谨致谢意。

钟。取出，用同温的蒸馏水漂洗以除去片子上的白色沉淀。然后置于同温的2×SSC溶液中处理1—1.5小时，尔后以蒸馏水冲洗，用Giemsa染色10分钟，流水冲洗，空气干燥。

五　G分带显色法：标本片放在60—70°C烘箱内烘2—4小时，然后置于0.3%胰酶溶液中（38°C）处理3—30秒钟，取出后用Giemsa染色10分钟，流水冲洗，空气干燥。

经过显带处理的标本片，在显微镜下观察，选出染色体分散良好，带型清晰的核型进行显微摄影，根据放大照片及镜下观察结果，对东北梅花鹿染色体的C分带和G分带的特征进行分析，并将G分带带型绘制成模式图。

结 果 与 分 析

一　二倍体细胞的染色体数目

经过对九只东北梅花鹿（5♂、4♀）的482个（♂268、♀214）细胞的观察，依表1的结果可以看出：东北梅花鹿的二倍体细胞染色体数以2n=66的居多，占观察细胞总数的76.76%；2n≠66的只占23.24%。故，东北梅花鹿的二倍体细胞染色体数应为2n=66。其中：雄性有32对常染色体和一对性染色体XY，雌性有32对常染色体和一对性染色体XX。

表1　　东北梅花鹿体细胞染色体数观察结果

鹿号	观察细胞数	染色体数																	
		53	54	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	71	74	77	80
1号公	47									1		28	14	3			1		
4号公	52					1					6	45							
8号公	49			1						1	2	44	1						
18号公	48								2		2	38	2		2	1			1
大公	72									2	6	62	2						
10号母	54					1		1		4	3	44	1						
33号母	49		2	1	1		3	1		5	1	34	1						
0号母	63	1						3		14	4	38	3						
大梅母	48		1						1	2	2	37	3	1				1	
合计	482	1	3	2	1	2	3	5	3	29	26	370	27	4	2	1	1	1	1
%		0.21	0.62	0.41	0.21	0.41	0.62	1.04	0.62	6.02	5.39	76.76	5.60	0.83	0.41	0.21	0.21	0.21	0.21

二　染色体组型分析

染色体测量结果列入表2。

按染色体的形态和着丝点的位置，东北梅花鹿的常染色体可分为两类即：中央着丝点染色体和端部着丝点染色体。据此，我们将东北梅花鹿的32对常染色体分成两组。组内的染色体则按相对长度依次顺序排列，并标以1—32的编号。性染色体不编号，分别

表 2　　东北梅花鹿染色体测量结果

组　别	染色体编号	相对长度	臂　比	着丝点指数	染色体类型
A	1	48.15±2.28	1.14±0.05	47.32±1.15	m
	2	42.84±1.93	1.11±0.06	47.55±1.37	m
	3	43.43±1.86			t
	4	40.44±1.41			t
	5	39.02±1.54			t
	6	37.58±1.21			t
	7	36.08±0.98			t
	8	35.23±0.72			t
	9	34.38±0.64			t
	10	33.37±0.97			t
	11	32.41±0.61			t
	12	31.55±0.74			t
	13	30.66±0.74			t
	14	29.34±0.67			t
	15	28.36±0.71			t
B	16	27.58±0.62			t
	17	26.95±0.55			t
	18	26.31±0.56			t
	19	25.72±0.64			t
	20	25.28±0.66			t
	21	24.73±0.68			t
	22	24.42±0.90			t
	23	23.71±0.80			t
	24	23.23±0.70			t
	25	22.83±0.69			t
	26	22.49±0.82			t
	27	22.07±0.80			t
	28	21.63±1.02			t
	29	21.03±0.99			t
	30	20.36±0.97			t
	31	19.51±1.05			t
	32	18.50±1.14			t
性染色体	X	51.43±4.30			t
	Y	13.09±2.04	1.70	37.00	sm

相对长度 $= \frac{\text{每条染色体的长度}}{\text{基因组的长度}} \times 1000 \pm S.D$

着丝点指数 $= \frac{\text{短臂长度}}{\text{染色体长度}} \times 100 \pm S.D$

臂　比 $= \frac{\text{长　臂}}{\text{短　臂}}$

染色体类型：

着丝点指数	类　型
50.0—37.5	m 具中央着丝点
37.5—25.0	sm 具亚中央着丝点
25.0—12.5	st 具亚端部着丝点
12.5—0	t 具端部着丝点

以X和Y表示。（见图1、2）。兹将各组染色体的特征简述如下：

A组：由第1号和2号二对中央着丝点染色体组成。第1号染色体是常染色体中最大的一对。第2号染色体比第3号染色体短，却因其具中央着丝点，故仍编入本组。

B组：由第3—32号染色体组成。30对全部都是端部着丝点染色体，故一并列入本组。组中第3号染色体较易识别，它仅小于X染色体及第1号染色体，其相对长度在常染色体中位居第二。从第4号到32号的29对常染色体，尽管外形上长短各不相同，却难以用肉眼准确判定各对染色体的排列位置。但第21号染色体着丝点上方有时能看到随体，第3号染色体臂端外可常见一浅染随体类似物（均见图1箭头指处）。

性染色体：雄性为XY，雌性为XX。X是核型中最长的具端部着丝点染色体；Y则是最短小的具亚中央着丝点染色体。

三 C分带分析

由图3、4表明，东北梅花鹿的66条染色体在着丝点部位均有一C带染色区。A组的第1、2号染色体着丝点部位为近乎相等大而颇小的浅染区。B组的30对染色体在每一对的着丝点区均有一大小不等而又较大的深染区。

X染色体与B组的30对常染色体相似，在着丝点部位亦有较大的深染区。Y染色体的着丝点部位为一较小的浅染区。

四 G分带分析

染色体经过胰酶处理和Giemsa染色后，各条染色体都能显示出其独特的带形。通过观察得知其带型稳定，借助它能把所有的同源染色体准确配对（图5、6）。现将东北梅花鹿染色体的G分带带型特征绘制成模式图(见图7)。

讨 论

1.据Gustavsson等人（1969）的报道，东北梅花鹿（*Cervus nippon hortulorum Swinhoe*）正常染色体数为2n=68，个体间染色体数存在着多态性(2n=68、67、66、65、64)。本文结果与Gustavsson等人的报道却不尽相同（见表3）。

表3

	染色体数	常染色体		总臂数		性染色体	
		m	t	♀	♂	X	Y
Gustavsson等	68	2	64	70		最大的t	最小的sm
本文	66	4	60	70	71	最大的t	最小的sm

我们通过对九只东北梅花鹿482个细胞的观察，确认其2n=66，个体间染色体数不存在多态现象，但在同一个体内细胞染色体数有差异。2n=66的细胞占观察细胞总数的76.76%，2n≠66的细胞占23.24%（多余或缺如的一般都是端部着丝点染色体，

由于罗伯逊易位而引起 2 n ≒66的细胞极少，只有 4 个）。出现此种现象的原因有两种可能，一是由于染色体畸变（如减数分裂过程中同源染色体不分离）引起；二是在染色体标本制备过程中无意地造成染色体随机丢失。

我国的东北梅花鹿主要分布在吉林省。其它省、区饲养的东北梅花鹿也多由吉林省引入。我所饲养的东北梅花鹿来源于吉林省内的东丰、辽源、双阳、伊通、辉南、龙潭山等有代表性的老鹿场。各(场)群体间的个体均可相互交配并能繁殖出正常的后代。所以，它们具有我国东北梅花鹿种群的代表性。因此，我们认为：我国的东北梅花鹿就其细胞遗传学的特性而言，正常染色体数应为 2 n ＝66。染色体组型见图 1 及图 2 所示。

一般认为染色体数的多态性，主要是由于染色体结构重组——着丝点融合或断裂所致。此类现象亦见于其他动物(Capanna 1980 Gustavsson1968)，如小鼠(*Mus musculus*)在意大利因所处地域不同，染色体出现了罗伯逊易位，从而导致染色体数发生变异。甚至在同一区系内，因小生境的差异，也能使各群体具有独特的染色体数。因此，意大利的小鼠除有 2 n ＝40的群体外，也还存在着 2 n ＝28、26、24、22等纯合群体。

综上所述，我们认为我国的东北梅花鹿与 Gustavsson 等人报道的尽管学名相同，均为*Cervus nippon hortulorum*，但由于他们既不清楚供试鹿的来源，又不知具有不同染色体数的个体间交配后能否繁衍正常的F_1，也未描述供试鹿的外貌特征，因此，两者无法进行比较。但就两者的染色体数及核型不同而言，是由于所处地域及小生境不同，使染色体发生罗伯逊易位？还是二者非属同一亚种？有待进一步探讨，至少两者非属同一个群体。

2.从C分带显色结果可以看出，东北梅花鹿染色体上异染色质的分布趋势是：集中分布在各条染色体的着丝点区。在中央着丝点及亚中央着丝点染色体上（如第 1 、 2 号染色体及 y 染色体）分布甚少，而在端部着丝点染色体上（如第 3 —32号常染色体及 × 染色体）的分布量显得相对集中并丰富得多。在染色体的其它部位似无所见。异染色质的这种分布方式与斑鹿*Axis axis*(T.C.Hsu 1974)有所不同，后者除着丝点部位有异染色质分布外，在第 1 、3 、4 号染色体及 y 染色体的其它部位亦有分布。如 y 染色体的C带染色区，从着丝点部位一直延伸到染色体臂近心端的四分之一处。此种现象说明了染色体上结构异染色质的分布，因物种之不同而异，从而表现出各物种有其独特的C带带型。

另外，从其他偶蹄动物如斑鹿，黑白花奶牛（马正蓉等1980），大额牛（单祥年等1980）及家猪（陈文元1979）的C带看出：Y染色体的C带着色区通常比X染色体的大且深染，说明Y染色体上比X染色体集中分布着更多的结构异染色质。但东北梅花鹿恰与其相反，X染色体上C带染色区比Y染色体的大且深染。这标志着Y染色体上结构异染色质含量要比X染色体少得多。这种现象除表现出物种的特异性外，其它的生物学意义尚有待进一步探讨。

3.东北梅花鹿的染色体经过胰酶处理和 Giemsa 染色后，每条染色体都能显示出其特有的G带带型。在观察这些带型时，发现不同细胞的某些同源染色体的带纹着色深浅不一，而且在同一细胞内的同源染色体上的带纹，有时也存在着深浅不一的现象，但带型是一致的（图 8 箭头指处）。这可能与显色技术，操作程序中某一步骤有关。所以，在鉴别时应以带型特征为主；而带型着色程度的深浅，只能作为参考。

此外，我们还观察到染色体G带带纹的宽窄及着色程度的深浅与染色体的长度有关。当第1号染色体的绝对长度为11.89微米时，短臂上出现6条深带，长臂上出现8条深带，而当它的绝对长度为8.27微米时，短臂上出现3条深带，长臂呈现出4条深带。短臂上第1、2条带合并为一条窄深带，而第3、4、5三条带则合并为一条宽深带了。可以看出，当染色体收缩变短时，彼此靠近的带纹合拢到一起，带纹着色程度随之变深。染色体收缩得越短，被合并的带纹就愈多，表现出来的带型就愈宽，着色也越深，但带纹的数目随之愈少。反之，当染色体较长时，带纹就疏展开来，从而显现出较多窄而浅的带纹。所以，我们认为，在描述一个物种的染色体G带带型时，应首先确定其染色体的绝对长度，然后再分析在该长度时所呈现的带型，否则将得不到较一致的结果。通过试验，我们认为东北梅花鹿染色体G带带型，以第1号染色体的绝对长度为9.5—10.5微米左右时，所出现的带型较有代表性，带型也较稳定。过长时，各条染色体臂易于相互缠绕或重叠；过短时，则只能看到为数不多的几条带。

参 考 文 献

马正蓉等 1980 牛染色体的C带、G带，姐妹单体互换的观察 动物学研究 1(3):313—318

吴常信 1975 动物的远缘杂交及杂种优势的利用 遗传与育种 1期 32—34

陈文元等 1979 家猪 *Sus scrofa domestica* 体细胞染色体的研究 遗传 1(5):8—10

单祥年等 1980 大额牛 (*Bos frontalis*) 的核型分析 遗传 2(5):25—27

David, A. Hungerford 1965 Leukocytes Cultured From Small Inocula of Whole Blood and The Preparation of Metaphase Chromosomes by Treatment With Hypotonic KCL Stain Technology 40 (6): 333—338

Capanna, Ernesto 1980 Chromosomal Rearrangement and Speciation in Progress in *Mus Musculus* Folia Zoologica 29(1):43—57

Gustavsson, I. and C. O. Sundt 1969 Three Polymorphic Chromosome Systems of Centric Fusion Type in a Population of Manchurian Sika Deer (*Cervus nippon hortulorum* Swinhoe) *Chromosoma* (Berl.) 28: 245—254

Gustavsson, I. and C. O. Sundt 1968 Karyotypes in Five Species of Deer(*Alces alces* L., *Capreolus capreolus* L., *Cervus Elaphus* L., *Cervus nippon nippon* Temm. and *Dama dama* L.) Hereditas(Lond.) 60:238—248

Hsu, T.C. 1974 Axis axis (Axis deer; chital) An Atlas of Mammalian Chromosomes Vol. 8 Folio 390

THE C AND G-BANDING KARYOTYPE OF EAST-NORTH SIKA DEER *CERVUS NIPPON HORTULORUM*

Yu Xiuzhang　Hu Zhendong

(Institute of Special Products, Chinese Academy of Agricultural Science)

The C and G-banding karyotypes of the *Cervus nippon hortulorum* are studied. The diploid number of this deer is 66, which can be divided into 2 groups. Group 1 has two pairs of chromosomes which are called metacentric chromosome. Group 2 consists of 32 pairs of acrocentric chromosomes. The sex chromosomes are X Y in male and X X in female. The X chromosome is the largest of the acrocentric chromosome; the Y chromosome is the smallest of the submetacentric chromosome.

Both C-banding pattern and G-banding pattern of *C. n. hortulorum* are analyzed. C-banding pattern shows that heterochromatin is found in all chromosomes, but the amount of the heterochromatin is different from those of acrocentrics, metacentrics and submetacentric chromosomes. G-banding pattern shows that homologous chromosomes have their own special banding patterns, so that each of them is easily recognizable. The G-banding pattern is described.

Yu Xiuzhang et al.: The C and G-Banding Karyotype of East-North sika Deer Cervus Nippon Hortulorum

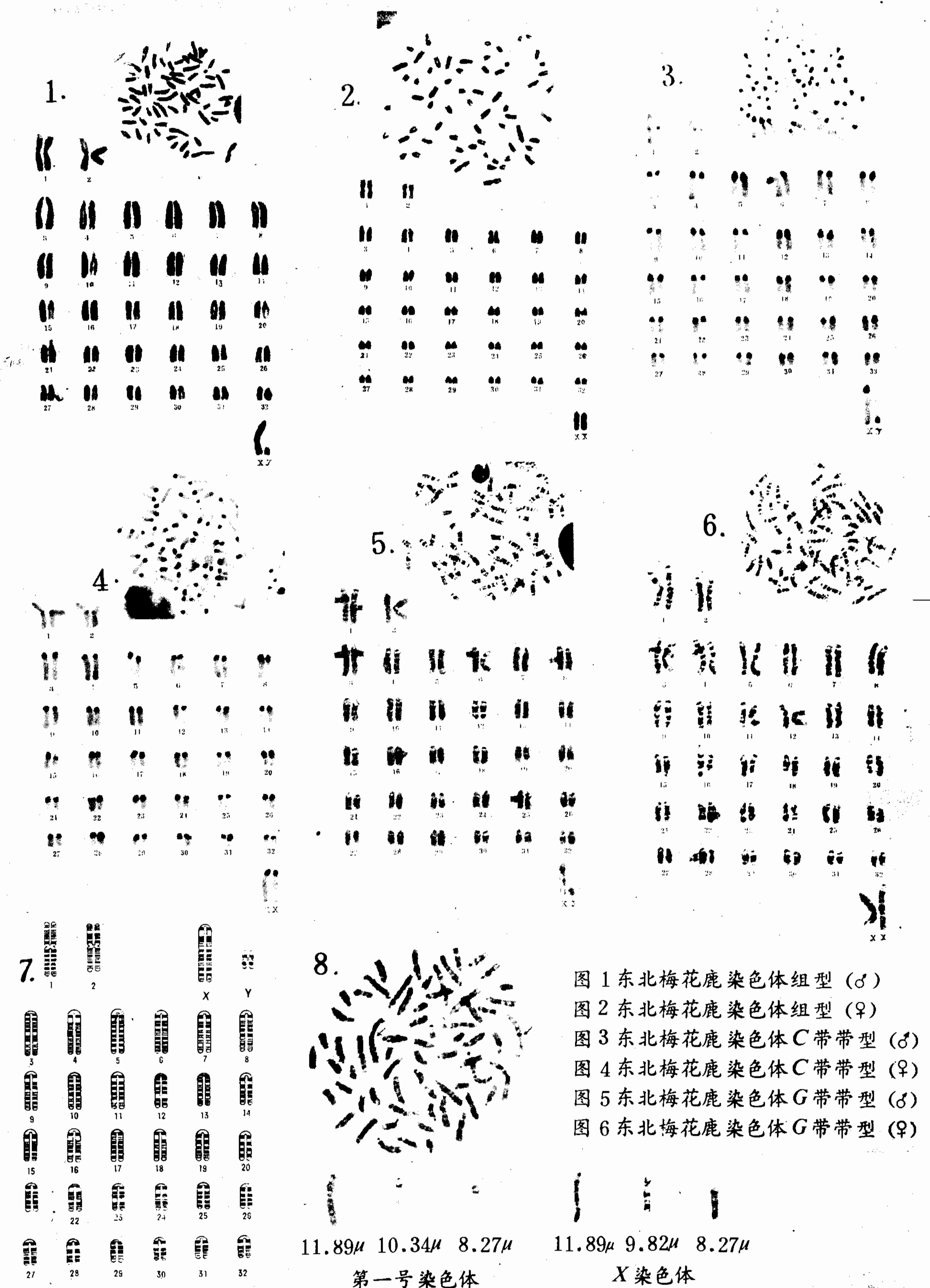


图 1 东北梅花鹿染色体组型 (♂)

图 2 东北梅花鹿染色体组型 (♀)

图 3 东北梅花鹿染色体C带带型 (♂)

图 4 东北梅花鹿染色体C带带型 (♀)

图 5 东北梅花鹿染色体G带带型 (♂)

图 6 东北梅花鹿染色体G带带型 (♀)